

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-320061

(43) 公開日 平成5年(1993)12月3日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/78	ADD J	7180-4C		
	ACL	7180-4C		
	ADA	7180-4C		
	AED	7180-4C		
7/00	K	9165-4C		

審査請求 未請求 請求項の数1(全 9 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平4-150155

(22) 出願日 平成4年(1992)5月19日

(71) 出願人 591002795

株式会社創研

香川県綾歌郡宇多津町2216-1

(72) 発明者 徳山 孝

香川県綾歌郡宇多津町2212

(74) 代理人 弁理士 清水 猛

(54) 【発明の名称】 豆類からの活性酸素消去剤

(57) 【要約】

【目的】 豆類を原料として、安全で安価で、医薬、食品、化粧品等幅広い分野で使用可能な活性酸素消去剤を提供する。

【構成】 豆類からの水抽出物または有機溶媒抽出物あるいは生豆からの搾汁液をそのまま、あるいはこれを含含有してなることを特徴とする活性酸素消去剤。

Best Available Copy

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 豆類からの水抽出物または有機溶媒抽出物あるいは生豆からの搾汁液をそのまま、あるいはこれを含有してなることを特徴とする活性酸素消去剤。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、豆類からの水抽出物または有機溶媒抽出物あるいは生豆の搾汁液をそのまま、あるいはこれらを含有してなることを特徴とする安全で安価で、医薬、食品、化粧品等幅広い分野で使用可能な活性酸素消去剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】人間が健康体を保っている場合、生体内の活性酸素と生体内での活性酸素消去酵素であるSOD（スーパーオキシドジスムターゼ）は、常にバランスがとれており、活性酸素の濃度は、ほぼ一定に保たれている。しかし、現在では、食生活のアンバランス、過度のストレスおよび高齢化などにより、SODの生成が減少し、また、一方では、喫煙、大気汚染などにより、活性酸素が増加している。

【0003】その結果、生体内に活性酸素が過剰に存在し、様々な組織障害をもたらしている。特に高齢者の場合、SOD活性が低下し、活性酸素濃度が高くなることにより、関節リウマチやパーキンソン病などの障害を起こしている。また、活性酸素により生成する過酸化脂質は、心筋梗塞、脳卒中、白内障、シミ、ソバカス、糖尿病、動脈硬化、肩凝り、冷え性などの近代病の主原因となっている。

【0004】また、高齢者でなくても、皮膚のように紫外線などのような環境因子の刺激を直接受ける部位では、活性酸素が特に生成しやすいため、活性酸素濃度の上昇にともない、メラニン色素の生成、シミ、小皺等の障害を起こしやすくなっている。

【0005】そこで、上述のような各種障害のもととなる過剰な活性酸素を消去するSODが注目を受け、これらの障害を予防または治療するために、SODを医薬品としたり、化粧品や食品に添加したりして利用する試みは行われてきた。しかし、SODは熱に不安定であり、しかも、経口投与により失活してしまうため、また、著しく高価であるため、SODによる活性酸素の消去は未だ成功していない。

【0006】上記実情から、活性酸素消去剤（SOD酵素と同じような働きをする抗酸化物質を含むもの）の研究が行われ、生薬抽出エキス等による活性酸素消去剤も開発されているが、特殊な原料によるものであり、高価であるばかりでなく、なかなか安定したものを供給することができないのが現状である。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】以上のように活性酸素による各種の障害が認められて以来、生体内の活性酸素

を消去するためのさまざまな研究が盛んに行われている。また、現在では、高齢化社会を迎えて、より健康で老後をすごすということが望まれている。一方、美容の面からも、活性酸素消去剤が注目をあびている。

【0008】そこで、人体にとって安全で安価で、各種障害を起こす活性酸素の消去効果に優れ、しかも、簡単に製造でき、安定して供給できる活性酸素消去剤の開発が望まれている。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、動植物合和の観点から、種々の植物成分の研究を進めてきた。その過程で大豆、えんどう豆、いんげん豆、小豆、そら豆等で代表される豆類には、今まで予測できなかった数多くの可能性、効果があることが判明してきた。そこで、古くから世界中で食用として用いられ、安全性が最も高いことが実証されている豆類をテーマとして取り上げ、豆類の総合利用研究を行ってきた。そのうちの一つのテーマとして、豆類からの活性酸素消去剤について鋭意研究を行い、豆類の抽出物または搾汁液をそのまま、あるいはこれを含有するものの活性酸素消去効果を測定したところ、非常に顕著な活性酸素消去効果があることが判明し、本発明を完成するに至った。

【0010】すなわち、本発明は、豆類の水抽出物または有機溶媒抽出物あるいは豆の搾汁液をそのまま、あるいはこれを含有してなることを特徴とする活性酸素消去剤であって、豆を圧搾あるいは水抽出（酸、アルカリ抽出も含む）またはアルコールなどの有機溶媒で抽出することにより、簡単、安価に、しかも、全く安全に、上記の効果を顕す非常に優れた活性酸素消去剤が得られるのである。ここで原料として用いる豆類は、大豆、えんどう豆、いんげん豆、小豆、そら豆等どんな種類の豆でもよい。また、豆の状態は、未熟生豆、完熟生豆、さらに乾燥処理した完熟豆等どんなものでもよい。

【0011】豆を水抽出または有機溶媒抽出する場合、まず、豆を粉砕または粉体化すると表面積が大きくなるため、極めて抽出効率が良いになる。この方法は、粉砕機を用い、一般的な方法によればよい。粉砕しなくてもよいが、この場合には、豆組織の分解および抽出に長時間を要する。

【0012】水抽出に当たっては、豆をそのまま、好ましくは粉砕または粉体化したものに加水する。加水量については、豆に対して2～5倍量で効率よく抽出されるが、収率、作業性、最終使用目的等に応じて適宜選定すればよい。この後加温してゆき、沸騰状態になった時点で抽出を完了する。抽出を完了した後、使用目的により圧搾、濾過を行えば、清澄な抽出エキスが得られる。なお、最初から熱水を加えて抽出を行ってもよい。

【0013】抽出液中の有効成分は解明されていないが、この未知の有効成分が熱に安定であることは確認できたので、水抽出の際の抽出温度は、高温が効率的であ

3

る。低温でも長時間置けば、十分に抽出を行うことができる。ただし、40℃以下の低温の場合は、pHを酸性あるいはアルカリ性にするか、防腐剤を加えることが必要である。抽出時間は、沸騰抽出の場合には数分でよいが、それ以下の中温の場合には、数時間から一昼夜が必要である。低温の場合は、豆の粉碎状態にもよるが、数日～1ヶ月必要である。ただし、この場合にも、なるべく最後には加熱するのがより効果的である。

【0014】澱粉主体の成分の豆の水抽出の場合に最も問題になるのは、糊化現象である。糊状になれば抽出効率が悪くなるのみでなく、実作業においては困難を極める。これを防ぐためには、アミラーゼを加えて反応させるか、塩酸などで酸性にして澱粉を分解すればよく、この方法を用いることにより、十分に解決でき、実用上も全く問題がない。

【0015】抽出液中の有効成分は、酸、アルカリに安定であるためか、酸抽出あるいはアルカリ抽出を行うのも有効である。また、水抽出の場合、酸、アルカリで前処理するか、豆の組織に働く酵素（例えば、セルラーゼ、リパーゼ）を反応させて前処理を行い、抽出する方法が効率的である。これは、前処理により、有効成分がより抽出されやすくなるためであると思われる。

【0016】さらに、有機溶媒抽出でも、本効果をもったエキスが抽出されることが判明した。このことは、有効成分の解明を進める上で、また、有効成分をコンクに抽出したり、水に溶けないものとの配合という利用用途の上で極めて有効である。この場合、なるべく微粉碎または粉体化することが好ましい。また、ここで用いる有機溶媒はアルコールのような人体に投与しても安全なものを使用することが望ましい。

【0017】また、生豆からの有効成分の採集には、豆の搾汁をとるのも有効であった。豆の搾汁をとる場合には、未熟生豆や完熟生豆、さらにはそれらを加熱処理したものを磨砕し、布袋に包んで絞るか圧搾機等を用いて搾るなど、一般的な方法によればよい。この場合にも、圧搾をした後の残渣を、さらに、水抽出または有機溶媒抽出することにより、効果としては弱い、活性酸素消去作用があることも判明した。

【0018】さらに、アルコール発酵、乳酸発酵等の発酵を組み合わせても同等の効果であった。なお、本発明品の豆類からの抽出には、以上のように有機溶媒抽出または水抽出し、その抽出物中の有効成分をさらに溶媒抽出すると、より有効である。しかし、これは、濃縮状態が得られるためと思われ、濃縮することにより同等の効果を得られる。

【0019】また、用途によっては搾汁や水抽出物に糖やデキストリンが含まれてベタつくとか、その効果において邪魔になることがある。その場合には、糖を酵母に食べさせるとか、有効成分を吸着剤で分画するとか、有機溶媒で抽出することにより糖を除いてやればよい。い

4

ずれにしても、抽出さえ行えば効果が出てくるわけで、用途によっては不要の成分は種々の方法により取り除けばよい。

【0020】豆類は古くから食用として毎日用いられており、あまりにも身近すぎて、このように活性酸素消去剤として使用する概念すらなく、思いもよらないことであった。また、豆の形で食べる以外には、豆腐、湯葉、油揚げ、餡、黄粉、納豆、味噌、醤油等、いろいろな形に加工されて用いられてきたが、豆類の抽出という考え方も方法も取られていなかった。これは、加熱抽出しようとする、澱粉豆の場合、糊状になり、従来の考え方は非常に困難であったことにもよるものと思われる。そのため、本発明においては、有機溶媒抽出、酸、アルカリ抽出を用い、また、水抽出の場合、アミラーゼなどを作用させ、抽出を容易にすることにより、目的を達成することができるようにしたのである。

【0021】また、大豆などのように蛋白質が主成分の豆の場合には、従来から抽出して豆乳を取る方法も用いられてきたが、栄養源としての利用のみであり、活性酸素消去剤としての利用は全くなされていなかった。また、従来の豆乳には、ほとんど活性酸素消去作用は認められなかった。すなわち、前処理としてセルラーゼ、リパーゼ等の豆の組織に働く酵素による処理、または酸、アルカリによる処理を行うことによりはじめて、目的を達成することができるようにしたのである。このように原料に合わせて充分抽出操作を行って初めて、非常に優れた活性酸素消去剤としての有効成分を抽出することができるのである。

【0022】本発明品の活性酸素消去効果について、以下に記載する。まず、各種イモ操作方法によるスーパーオキシド消去剤としての効果を調べた。試験方法はNBT法により行った。

#### 【0023】試薬の調整

- ① 0.05M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  緩衝液 (pH10.2)
- ② 3mM キサンチン溶液；キサンチン45.64mgを①の緩衝液に溶解して100mlとする。
- ③ 3mM EDTA溶液；EDTA・2Na 111.7mgを蒸留水で溶解して100mlとする。
- ④ BSA溶液；Bovine Serum Albumin (Sigma 製) 15mgを蒸留水に溶解して10mlとする。
- ⑤ 0.75mM NBT溶液；NBT (ニトロブルーテトラゾリウム) 61.32mgを蒸留水に溶解して100mlとする。
- ⑥ キサンチンオキシダーゼ溶液；キサンチンオキシダーゼを蒸留水で希釈し、後記の操作法 (分析法) の空試験における吸光度が0.2～0.23の範囲になるように調整する。
- ⑦ 6mM  $\text{CuCl}_2$  溶液； $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  102.29mgを蒸留水に溶解して100mlとする。

#### 【0024】操作法

- ① 試験管に $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 緩衝液2.4mlをとり、これにキサンチン溶液、EDTA溶液、BSA溶液、NBT溶液を各0.1ml加える。
- ② 次いで、試料溶液0.1mlを加え、25℃で10分間放置後、キサンチンオキシダーゼ溶液0.1mlを加え、手早く攪拌し、25℃でインキュベートする。
- ③ 20分後に $\text{CuCl}_2$ 溶液0.1mlを加えて反応を停止させ、560nmで吸光度を測定する。
- ④ 比較のため、サンプルの代わりにスーパーオキシド\*

\*ドジスムターゼ(Cu、Zn型SOD、活性3000~4000 unit/mg 和光純薬)水溶液0.1mlについても同様に行い、この値をスーパーオキシド消去率100とする。

⑤ また、サンプルの代わりに蒸留水を用いて同様に行いブランクとする。測定結果を表1に示した。

【0025】

【表1】

	小豆		蚕豆		大豆		SOD
	水抽出物	有機溶媒抽出物	水抽出物	有機溶媒抽出物	水抽出物	有機溶媒抽出物	
スーパーオキシド(SO) 消去率(%)	88	95	89	63	66	50	100

注1 小豆水抽出物は実施例1により得られた本発明品を用いた。

注2 大豆有機溶媒抽出物は実施例2により得られた本発明品を用いた。

【0026】以上のように、水抽出物においても有機溶媒抽出物においても、スーパーオキシド消去効果があることが分かった。さらに、その効果は、アルコール発酵、乳酸発酵を行ってもほとんど同様の効果であること※

※が判明した。

【0027】次に、本発明品の熱安定性について調べた。まず、実施例1により得られた本発明品およびSODを90℃10分間加熱処理し、そのスーパーオキシド消去能を調べた。スーパーオキシド消去率の測定は、前記方法により行った。その結果を表2に示した。

【0028】

【表2】

	小豆 水抽出物	蚕豆 水抽出物	大豆 水抽出物	SOD
SO消去率(%)	89	88	65	0

注 表1と同様、各抽出物は各実施例により得られたものを使用した。

【0029】以上のように、SODは熱に対して不安定なのに対して、本発明品は全て熱安定性に優れていることが分かった。このことより、本発明品の活性酸素を消去する有効成分は、熱に対しても安定性に優れているといえる。本発明品は、非常に顕著な活性酸素消去効果を示し、しかも、安全なものであるから、医薬、化粧品、食品などに利用できるものである。次に、これらの用途について説明する。

【0030】医薬品としては、抗潰瘍剤として利用できる。本発明品の抗潰瘍作用について調べた試験方法とその結果について示すと、次のとおりである。拘束水浸ストレス潰瘍に対する本発明品の経口投与における作用を調べた。その方法は、渡辺らの方法に準じて行った。すなわち、8週齢のddY系雄性マウスを24時間絶食

後、実施例1により得た本発明品を0.3ml/マウス経口投与し、30分後にストレスゲージに入れ、15℃の水中に剣状突起まで浸し、拘束水浸ストレスを負荷した。5時間後に頸椎脱臼して屠殺し、胃を摘出した。その後、1%ホルマリン溶液1.5mlを胃内に注入し、さらに、同液中に浸すことにより胃組織を軽く固定し、24時間そのまま放置した。その後、大弯に添って切開し、脾胃部に発生した損傷の長さ(mm)を測定し、一匹当りのその総和を潰瘍係数として表した。また、コントロールとしては、ストレスゲージに入れる30分前に同量の生理食塩水を経口投与したものを用いた。マウスは各々15匹ずつで行った。その結果を示すと表3のとおりである。

【0031】

【表3】

	投与量 (ml/マウス)	検体数	潰瘍係数の平均
生理食塩水	0.3	15	65.8
本発明品	0.3	15	34.9

【0032】表3のように、コントロールとして生理食塩水を投与したマウスにおける潰瘍係数の平均が65.8であるのに対して、本発明品を投与したマウスにおける潰瘍係数の平均は34.9となり、明らかに本発明品は、経口投与することにより拘束水浸ストレス潰瘍に対する抗潰瘍剤として有効であることが判明した。この結果、本発明品は、胃腸粘膜から直接に作用して抗潰瘍剤\*

\*として有効な作用を示すことが判明した。

【0033】次に、本発明品は、皮膚治療剤として利用できる。各種皮膚疾患のパネラーに、本発明品を毎日、朝、晩2回患部に塗布させ、これを1ヶ月間継続して行い診断した結果を表4に示した。

【0034】

【表4】

	著名改善	有用	やや有用	どうもいはい	中止	有用率 (%)
すり傷、きり傷	0	3	5	4	0	66.7
火傷	1	3	5	2	0	81.8
おむつかぶれ	0	3	6	2	0	81.8
虫さされ	0	1	4	2	0	71.4
おでき、吹出物	0	5	9	4	0	77.8
にきび	2	3	5	2	0	83.3
ひび、あかぎれ	0	3	3	2	0	75.0
乾皮症	1	2	8	2	0	84.6
皮膚のかゆみ	0	2	12	5	0	73.7
湿疹	1	4	6	3	0	78.6
アレルギー性皮膚炎	1	5	4	6	0	62.5
小水疱型水虫	0	3	4	1	0	87.5
角化型水虫	0	4	2	1	0	85.7

- (注) 1 本発明品は実施例1により得られたものを使用した。  
 (注) 2 有用率は著名改善+有用+やや有用の全体の割合  
 (注) 3 判定は専門の医師により行った。  
 (注) 4 パネラーは男性35名、女性33名 計68名  
 平均年齢32.5歳(年齢1~79歳)であった。

【0035】上記の表4に示すように、本製品にはさまざまな皮膚治療剤としての効果があることから、繊維芽細胞試活作用、さらには抗菌作用があることが分かる。また、乾皮症、にきび等にも有用なことから、保湿作用、脂皮の増大を適度に抑制する作用もあることが分かるが、実際にこの保湿作用および脂皮の増大を適度に抑制する作用について調べた試験方法とその結果を示す

と、次のとおりである。

【0036】まず、本発明品の保湿作用の強さを例証するために、水分計(SKICON200)を用いて1回塗布試験を行った。測定条件として室温20℃、相対湿度65%の環境を設定し、パネラーは測定の約10分前から、前記の環境下で安静にさせておいた。被験部位は(両側)前腕屈側で皮疹の認められていない部位を選ん

だ。パネラーは乾皮症で悩んでいる5名で行った。水分計から読み取った本試験（実施例1により得られた本発明品を用いた）と対照試験（水使用）との角層水分含有量の変化の平均値を図1に示した。1回塗布試験の測定方法は下記のとおりである。

#### 【0037】測定方法

- 1) パネラーの前腕屈側に5×5cmの被験部位と対照部位を設定する。
- 2) それぞれの部位の角層水分含有量を測定する。
- 3) 試料塗布直後、30、60、90、120分後の角層水分含有量を測定する。

【0038】図1から、本発明品は、塗布直後、角層水分含有量において、対照の約8倍ほどの増加が認められた。また、塗布後30分から120分までについてみると、本発明品塗布部位では、120分まで対照の2～3倍の水分を維持していることが分かる。

【0039】次に、本発明品の乾皮症の治療効果を数値的に実証するために、水分計（SKICON200）を用いて本発明品使用前と2週間使用後の水負荷試験を行った。パネラーは図1で使用した5名を用いて行い、測定条件も1回塗布試験と同一条件下で行った。なお、効果判定に季節的な生体角層の水分含量の変化が影響しないように必ず対照（本発明品無塗布部位での測定）をおくようにした。角層水分含有量はパネラー5名の平均値で示した。この結果を図2に示した。本発明品は、実施例1により得られたものを用いた。また、水負荷試験の測定方法は下記のとおりである。

#### 【0040】測定方法

- 1) 被験部位の角層水分量を測定する。
- 2) 蒸留水を1滴被験部位にのせ、10秒後に乾いたガーゼで水滴を完全に拭きとる。
- 3) 拭きとった直後、30、60、90、120秒後の角層水分含有量を測定する。

【0041】図2のグラフが示すように、本発明品塗布により、皮膚の水分吸水能（水負荷後0秒の角層水分含有量から負荷前の角層水分含有量の値を引いたもの）、水分保持能（水負荷後0秒から120秒までの角層水分含有量の描く曲線）の双方を同時に改善させていることが分かる。

【0042】すなわち、本発明品使用前の皮膚は、水負荷前の角層水分含有量が非常に低く（平均4.6）、吸水能（平均42.0）もかなり低下している。また、水分保持能も正常人の皮膚の角層は、吸水した水分を徐々に放出していくのに比べ、水負荷30秒後には、水負荷前の値に戻ってしまっている。これらの結果は、測定した病的角層においては、吸水能、水分保持能、バリア機能すべてが低下していることを物語っている。これに対し、本発明品使用後の皮膚は、水負荷前の角層水分含有量も吸水能も約2倍に増え、水分保持能も正常人と変わらないほどにかなり改善されていることが分かった。

【0043】このことから、本発明品は、病的角層の水分含有状態やバリア機能改善について優れた作用があるといえる。また、1回塗布試験より得た保湿作用と合わせて本発明品を評価すると、本発明品は、角層の吸水能、水分保持能を増大し、水分を外界から多く吸収し、さらに、一度吸収した水分を放さないようにする性質を角層に与えるという保湿作用があるといえる。

【0044】さらに、本発明品の皮脂量の分泌抑制効果を実験的に例証するために、洗顔後の皮脂量の変化を測定した。パネラーは表4で使用した中から無作為に選んだ5名を用い、本試験（洗顔後、本発明品を塗布）と対照試験（洗顔のみ）との皮脂量の変化の平均値を図3に示した。なお、本発明品は、実施例1により得られたものを用いた。

【0045】図3のグラフに示すように、本発明品を塗布すると皮脂量の増大がかなり抑制されることが判明した。この本発明品の皮脂量分泌抑制効果からも、ニキビの予防治療効果が裏付けられた。また、本発明品を化粧品として肌に塗布すると、肌がつるつるする、きめが細かくなるという効果、しわがのび若返る効果、さらに老化防止効果があることが、次の試験から明らかになった。

【0046】本発明品をパネラーの右腕部位に1日2回1ヶ月間塗布させ、本発明品塗布部位を動摩擦計で測定した。対照は左腕の同部位を用いた。パネラーは6名で行った。

測定条件は下記のとおりである。

温度	25℃
湿度	60%
使用センサー	KES-SE摩擦感テスターSE-2タイプ(0.5mmピアノワイヤー使用)
摩擦静荷重	50gf
測定速度	1mm/sec
測定距離	30mm(積分有効範囲20mm)

【0047】本発明品を塗布していない左腕の部位では、MMD（変動係数）0.0186であったのが、本発明品を1ヶ月間塗布した右腕の部位では、MMD（変動係数）0.0084に下がった。6名の平均値もほぼ同様であった。これは、表面の凹凸による変動が小さくなったためと考えられ、このことから、肌のきめが細かくなったこと、さらには、しわがのび若げることが判明した。なお、同時にMIU（摩擦係数）も調べたところ、塗布前は0.138であったのが、1ヶ月塗布後の肌は0.102に下がり、肌をつるつるさせる効果、肌をやわらかくする効果、さらには、老化防止効果をも合わせ持つことが判明した。

【0048】さらに、本発明の美白作用を例証するために、テロシナーゼ活性阻害作用の試験を行った。操作方法としては、基質液（0.04%テロシン溶液）、緩衝液（McIlvaineBuffer pH6.8）各1mlを吸光セル

に正確に取り、水および実施例1で得られた本発明品を、それぞれ1mlづつ正確に入れ、攪拌混和して35℃に保ち、5分後、吸光度目盛を波長475nmに合わせ、ゼロ補正を行い、次いで、チロシナーゼ溶液（チロシナーゼ5.3mgを0.9%NaCl溶液に溶かしたもの）0.02mlを正確に加え、直ちに攪拌してインキュベートした。この時の吸光度を経時間（3分置き）に測定し、表5に示した。

【0049】

【表5】

分	水	本発明品
0	0.011	0.012
3	0.058	0.045
6	0.152	0.059
9	0.243	0.097
12	0.316	0.099
15	0.414	0.118
18	0.498	0.133
21	0.552	0.142
24	0.621	0.151
27	0.623	0.157
30	0.629	0.162

【0050】表5に示す測定結果から、本発明品は、チ\*

	小豆水抽出物	大豆水抽出物	水
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	+++
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	+++
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+++

注1 評価は - : 発育せず + : 少し発育あり

++ : 発育あり +++ : 発育大

注2 小豆水抽出物は実施例1により得られたもの、大豆水抽出物は実施例2により得られたものを用いた。

【0055】表6から明らかなように、コントロールと

\*ロシナーゼ活性阻害作用を有することが分かる。このことから、本発明品には美白作用があるといえる。

【0051】さらに、前記に述べたように、本発明品は、医薬品として使用できるほどの保湿作用も持っている。したがって、化粧品の基本となる作用を全て満足していることになり、クリーム、乳液、化粧水、クレンジング、パック、石けん等、幅広い利用用途がある。また、本発明品を飲用することによっても、上記と同様の効果が得られた。

10 【0052】本発明品は、食品の保存剤、鮮度保持剤としても利用できるものである。次に、グラム陽性菌の代表として、米飯やパンなどの腐敗を起こす *Bacillus subtilis*、*Bacillus cereus*、およびグラム陰性菌の代表として、一般的な汚染の指標とされている大腸菌 *Escherichia coli* に対する本発明品の抗菌力試験と、その結果を示す。

20 【0053】培地は、普通寒天培地10mlに、本発明品1ml添加したものを用いた。コントロールとして、本発明品の代わりに水1mlを添加したものを用いた。培養は37℃48時間行ない、各菌の発育状態を観察し、表6に示した。

【0054】

【表6】

して水を添加した培地では、35℃で48時間培養において、食品の腐敗菌も大腸菌もかなり発育が大きかったのに対して、本発明品を添加した培地では、大腸菌はわずかに発育が認められたものの、*Bacillus* 属の菌の発育はまったく認められなかった。この結果より、本発明

品は、きわめて有効な抗菌効果を有するものであることが判明した。

【0056】次に、本発明品による酸化物の生成抑制効果をロダン鉄法により調べた。すなわち、本発明品によるきわめて酸化されやすいリノール酸の酸化抑制効果を調べた。測定方法は以下に示すとおりである。

【0057】試薬の調製

- ① 0.2M リン酸緩衝液 (pH7.0)
- ② 2.6% リノール酸エタノール溶液
- ③ 75% エタノール溶液
- ④ 30% アンモニウムチオシアネート
- ⑤ 0.02M 塩化第二鉄の35%塩酸溶液

【0058】操作方法

- \*① 試料溶液0.2ml、0.2Mリン酸緩衝液0.1ml、水0.5ml、2.6%リノール酸エタノール溶液0.2mlを加えてよく混合し、37℃で5日間放置する。
- ② ①の酸化処理液50μl、75%エタノール溶液4.85ml、30%アンモニウムチオシアネート50μl、0.02M塩化第二鉄の35%塩酸溶液50μlを混合し、5分後に500nmの吸光度を測定する。
- ③ また、サンプルの代わりに蒸留水を用いて同様に10行い、ブランクとする。結果は表7に示した。

【0059】

【表7】

サンプル名	A <sub>500</sub>	酸化割合 (%)
水 (コントロール)	0.352	100.0
小豆水抽出物	0.064	18.2
大豆水抽出物	0.047	13.4

注1 小豆水抽出物は実施例1により得られた本発明品を用いた。

注2 大豆水抽出物は実施例2により得られた本発明品を用いた。

【0060】表7から明らかなように、本発明品は、きわめて酸化されやすいリノール酸に対して、優れた酸化防止効果を持つことが判明した。

【0061】このように、本発明品は、人体に対して安全でさまざまな菌に対する抗菌効果、褐変防止効果、さらには抗酸化効果を有することから、保存料さらには抗酸化鮮度保持剤として、広く食品に用いることができるものである。

【0062】

【発明の効果】前記のデーターからも明らかなように、豆類を水抽出あるいは有機溶媒抽出あるいは搾汁することにより、簡単に、全く安全で、熱に対して安定で、しかも、活性酸素消去効果に優れ、さらに、さまざまな効果を有する活性酸素消去剤が得られる。

【0063】豆類は古くから食用として用いられてきたため、食以外の新規な分野での製法、利用用途はほとんど開発されていなかった。さらに、豆類は食として用いられてきたものであり、安全性も実証されているものである。

【0064】したがって、本発明は、前述の疾患の予防ないし治療のための医薬品として使用できるほか、食品、化粧品等に添加して健康増進、美容のために役立たせることも可能であり、幅広い分野で利用可能な活性酸素の消去剤を、安全性の実証されている身近な豆類から

簡単に得られることを見出したものである。

【0065】また、豆は今まで食としての利用しかされていなかったものであり、豆の新たな利用用途を開発し、新たな可能性を見出したことは極めて有意義なことである。

【0066】

【実施例】実施例1

30 完全乾燥小豆1kgをよく粉砕し、これに55℃の温水3リットルと液化酵素15gを加え、よく攪拌した。その後、徐々に加温してゆき、5分間煮沸抽出した後、30℃まで冷却した。その後、しぼり機でしぼり、小豆水抽出液2.5リットルと残渣1.4kgを得た。

【0067】実施例2

40 完全乾燥大豆1kgをよく粉砕し、90%アルコール2リットルを加え、よく攪拌して24時間放置した後、しぼり機でしぼり、圧搾液1.5リットルと残渣1.3kgを得た。この圧搾液に2.0リットル加水し、減圧下で濃縮してエタノールを除去し、本発明品1.4リットルを得た。

【0068】実施例3

枝豆3kgを圧搾機にかけ、搾汁液0.6リットルと残渣2.4kgを得た。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明品と水の保湿効果について、水分計 (SKICON200) を用い1回塗布試験を行った結果を示すグラフである。

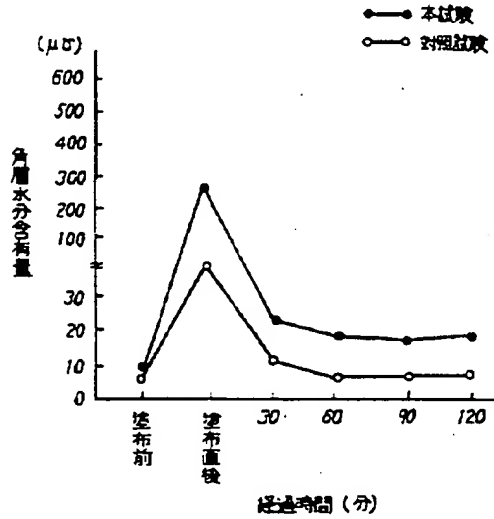
【図2】本発明品使用前と2週間使用後の水負荷試験を行った結果を示すグラフである。



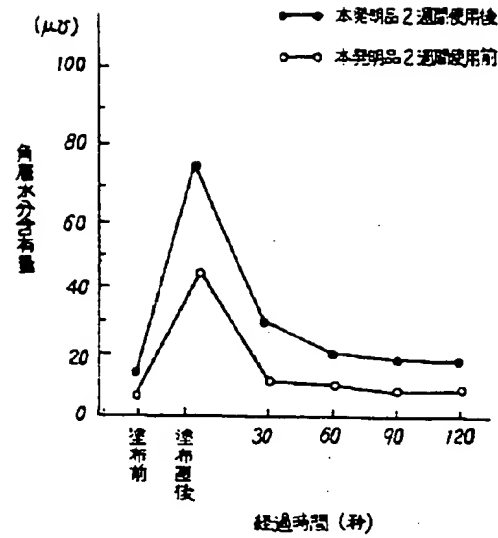
【図3】洗顔後に本発明品を塗布した場合と洗顔のみの場合の皮脂量の変化について試験した結果を示すグラフ

である。

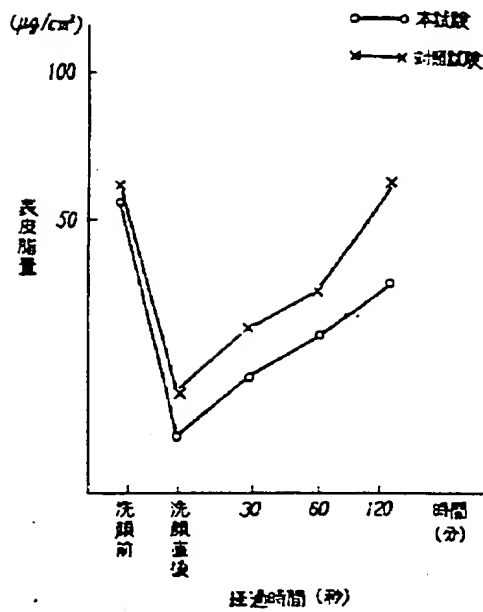
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

(51)Int. Cl. 5

A 61 K 7/00

7/48

C 09 K 15/34

識別記号

庁内整理番号

X 9165-4C

Y 9165-4C

9051-4C

F I

技術表示箇所

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**